

원 저

## 萊菔子が 알러지성 喘息 動物模型에서 免疫反應에 미치는 影響

박기철 · 박재영 · 박희수

상지대학교 한의과대학 침구학교실

### Abstract

#### Effects of Raphani Semen on Immuno-response in the Mouse Model of allergic Asthma

Ki-Chul, Park · Jai-Young, Park · Hee-Soo, Park

Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine,  
Sang-Ji University

**Objective :** This study was carried out to investigate the effects of Raphani Semen on immuno-response in the mouse model of allergic asthma.

**Methods :** In this study, BALB/C mice were divided into 6 groups : Normal (Non-treated group), Control (Group with not treated after allergic sensitization and induction by ovalbumin), Treat I (Group with the oral administration of saline after allergic sensitization and induction by ovalbumin), Treat II (Allergic asthma group treated with acupuncture (BL 13)), Treat III (Allergic asthma group treated with the oral administration of Raphani Semen) and Treat IV (Allergic asthma group treated with the herbal-acupuncture of Raphani Semen (BL 13)). The effect on cytokine was assessed by measuring cytokine (IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IFN-r) in bronchoalveolar lavage fluid(ELISA).

**Results :** The results obtained as follows :

1. The production of Interleukin-2 was decreased significantly in Treat I group, Treat II group and Treat IV group as compared with Control group.
2. The production of Interleukin-4 was decreased significantly in Treat I group, Treat II group and Treat IV group as compared with Control group. Among them, the production of Interleukin-4 was decreased remarkably in Treat IV group as compared with other groups.
3. The production of Interleukin-5 was decreased significantly in Treat I group and Treat IV group as compared with Control group.
4. The production of Interleukin-10 was decreased significantly in Treat I group and Treat III group as compared with Control group.
5. The production of Interleukin-12 was all decreased significantly in Treat I group, Treat II group, Treat III group and Treat IV group as compared with Control group.
6. The production of Interferon- showed no significant changes in Treat I group, Treat II group, Treat III group and Treat IV group as compared with Control group.

**Conclusion :** These results show that the production of Interleukin-4, 5 was decreased significantly in allergic asthma group treated with the herbal-acupuncture of *Raphani Semen* (BL 13). It is known that inactivity of Th2 cell constrained the revelation and controlled hypersensitive action. As to this mechanism, it is suggested that the herbal-acupuncture of *Raphani Semen* (BL 13) constrained the revelation of allergic asthma.

**Key words :** Allergic asthma, *Raphani Semen*, Pyesu(BL 13), BALB/C mouse, Herbal-acupuncture.

### I. 緒論

氣管支 喘息은 다양한 자극에 대한 기관지의 反應性 증가를 특징으로 하는 氣道疾患인데, 臨床的으로 咳嗽(cough), 呼吸困難(dyspnea), 喘鳴(wheezing) 등의 소견을 보이는 가장 대표적인 呼吸器 疾患이다.<sup>1)</sup>

Allergy性 기관지 천식은 吸入된 抗原이 生體內에서 急性 發作을 일으키는 병증으로, 그 發生機轉은 기관지 平滑筋의 수축이나 경련, 기관지 점막의 부종과 점액분비 증가에 의해서이며 이 중에서 기관지 平滑筋 수축이 주된 발생기전이다.<sup>2)</sup>

萊菔子(RAPHANI SEMEN)는 그 氣味가 平, 辛甘, 無毒하고, 주로 肺, 胃經에 歸經하며, 下氣定喘, 消食化痰하는 效能이 있어 咳嗽痰喘, 食積氣滯, 胸悶腹脹, 下痢後重 등을 治療하는 藥物로<sup>3)</sup> 申<sup>4)</sup>은 “痰喘을 定하고 咳嗽를 누르며, 下氣除脹하여 行氣消痰의 要藥이 된다.”고 하였다.

藥針療法은 經絡學說의 原理에 의거하여 一定한 藥物을 원료로 해서 다양한 抽出過程을 거쳐 만들어진 제제를 가지고, 주사기를 이용해 病證에 有關한 穴位, 壓痛點, 혹은 體表의 觸診으로 얻어진 陽性反應點에 주입하여 刺針과 藥物作用을 통해 生體의 기능을 조정하고, 病理狀態를 改變시켜 질병을 치료하는 新針療法이다.<sup>5)</sup>

肺俞(Pyesu, BL 13)는 足太陽膀胱經의 穴로 肺의 背俞穴이고, 第三胸椎棘突下 兩傍 各 1寸 5分에 위치하는데, 그 穴性이 調肺氣, 補虛損, 清虛熱, 和營血하여 肺疾患, 肺炎, 肺結核, 咳嗽, 喘息, 氣管支炎, 呼吸困難 등을 치료하는데 널리 활용된다.<sup>6)</sup> 최근 연구에 의하면 肺機能 및 肺氣量 調節 作用, 氣管支 平滑筋 鎮靜 作用, 氣管支 喘息 發作 停止作用이 있다고 보고되었다.<sup>7)</sup>

천식과 면역반응에 대한 실험연구로는 權<sup>8)</sup>이 淸上補下湯이 Allergy 喘息의 呼吸樣相과 氣管粘膜의 好酸球

變化에 미치는 影響을, 車<sup>9)</sup>가 小青龍湯이 Asthma model 內的 Cytokine에 미치는 影響을, 李<sup>10)</sup>가 五拗湯이 咳嗽 喘息에 미치는 影響을, 權<sup>11)</sup>이 五拗湯이 알레르기 喘息의 呼吸樣相과 氣管組織에 미치는 影響을, 鄭<sup>12)</sup>이 杏仁과 桔梗이 Asthma model 內的 Cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 影響을, 崔<sup>13)</sup>가 數種의 止咳平喘 藥材가 氣管支 平滑筋에 미치는 影響을, 朴<sup>14)</sup>이 氣管支 喘息 생쥐 模型에서 麥門冬 藥鍼이 抗알레르기 및 免疫反應에 미치는 影響을, 沈<sup>15)</sup>이 淸肺散이 마우스의 免疫 및 過敏反應에 미치는 影響을, 金<sup>16)</sup>이 解表二陳湯이 알레르기 喘息의 呼吸樣相과 氣管組織에 미치는 影響을 보고한 바 있다.

이에 著者は Allergy성 천식에 대한 萊菔子の 效能을 실험적으로 관찰하고자 mouse에게 ovalbumin 感作 이후 ovalbumin을 吸入시킴으로써 Allergy성 천식을 誘發하고, 萊菔子 藥物 經口投與와 萊菔子 藥鍼處理를 한 뒤, IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IFN- $\gamma$  生産량을 측정하여 그 變化를 통해 유의성 여부를 觀察하고자 하였다. 또한 각각 Treat群에 saline 經口投與와 肺俞穴 刺針의 Treat군을 두어 그 影響을 多角度로 觀察해 볼 수 있도록 실험을 구성하였다.

### II. 實驗 材料 및 方法

#### 1. 實驗 動物 및 管理

##### 1) 實驗 動物

본 실험에 사용된 동물은 4주령으로 체중 25g내외의 雄性 BALB/C계 mouse를 (주) 대한 바이오링크에서 공급 받아 본 飼育室에서 1주일간의 적응기간을 거친 뒤

실험에 임하였다.

### 2) 給與 飼料 및 管理

급여 사료는 시판되는 mouse용 일반사료로 1주간 적응시켰고 사육실 온도( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) 및 습도(40~60%)는 높은 항습 장치로 자동 조정 되었으며 명암은 12시간 주기로 하고 물은 자유 섭취시켰다.

### 3) 藥材

실험에 使用된 萊菔子是 시중 乾材商에서 구입하여 雜質을 제거하고, 形態가 完全한 것을 精選하여 사용하였다.

## 2. Allergy性 喘息 模型(17-18)

### 1) 實驗 1日(感作 1日)

10% (wt/vol) aluminum sulfate( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ , Shinyo, Japan)와  $500 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 ovalbumin(A-5253, Sigma, U.S.A.)을 同量 섞고 pH를 6.5로 맞추고 실온에서 60분 放置한 후  $750 \times \text{g}$ 로 5분간 원심분리하여 상층액은 버리고 가라앉은 침전물에 生理食鹽水를 加하여 원래의 부피로 맞춘 뒤 ovalbumin  $100 \mu\text{g}/0.2 \text{ml}$ 을 腹腔內로 주사하여 感作시켰다.

### 2) 實驗 15日(再感作)

실험 1일에 시행한 ovalbumin을 복강내로 주입하면서 鼻腔內로 吸入시켜 再感作시켰다. 비강내로 주입시 ovalbumin  $100 \mu\text{g}$ 을 생리식염수  $50 \mu\text{l}$ 에 녹여 사용하였으며 mouse를 diethyl ether로 마취시킨 후 catheter(24G, 보인메디카, Korea)를 이용하였다.

### 3) 實驗 26, 27, 28日(誘發)

매일 1회씩 mouse를 마취시킨 후 catheter를 이용하여 비강내로 ovalbumin( $100 \mu\text{g}/50 \mu\text{l}$ )를 주입하여 誘發하였다.

## 3. 藥鍼과 藥物 處理

Allergy성 천식에 감작된 1~5일과 유발된 24~28일에 매일 1일 1회씩 처리하였다. 藥鍼 處理群(Treat IV)은 syringe(26G)를 이용하였는데 여기에는 0.2ml의 약침을 썼고, 刺針群(Treat II)은 stainless steel 鍼(0.25mm, 길이

3.0cm 杏林書院)을 사용하였으며, 이외에 經口 投與群(Treat III)은 藥物을 투여하였고, 生理食鹽水 投與群(Treat I)은 同量의 saline 처리를 하였다.

## 4. 群의 分類

각 군은 mouse를  $25 \text{g} \pm 5 \text{g}$ 으로 구분하여 8마리씩 無作爲로 구성하였다.

- ① 正常群(Normal): 어떤 처리도 하지 않은 정상적인 군
- ② 對照群(Control): Allergy성 천식만 유발시킨 군
- ③ 生理食鹽水 投與群(Treat I): Allergy성 천식을 유발시키고 saline을 경구투여한 군
- ④ 刺針群(Treat II): Allergy성 천식을 유발시키고 肺俞에 자침한 군
- ⑤ 藥物 經口投與群(Treat III): Allergy성 천식을 유발시키고 藥物을 경구투여한 군
- ⑥ 藥針 處理群(Treat IV): Allergy성 천식을 유발시키고 肺俞에 藥物을 약침 처리한 군

## 5. 藥物 및 藥鍼<sup>19)</sup>

### 1) 藥物

雜質을 제거한 萊菔子 300g을 흐르는 물에 깨끗이 씻은 후 증류수 2,000ml을 加하여 3시간동안 heating mantle(HN1-F, Hana, Korea)에서 煎湯한 다음 이를 8겹의 거즈로 濾過한 후 rotary evaporator(RE-52, Yamato, Japan)를 이용하여 감압농축한 다음 이를 동결건조기(일신, Korea)로  $-40^\circ\text{C}$ 에서 72시간 완전히 건조시켜 44.91g의 건조엑스(득수율 14.97%)를 얻었으며 경구투여시 이를 증류수에 희석시켜 사용하였다.

희석비율은 체중 60kg 성인의 1회투여량을 生藥 12g으로 보고, 25g의 mouse는 생약 分量이 1/200g이 되도록 희석시켜 사용하였다.

### 2) 藥鍼

萊菔子 300g의 雜質을 제거하고 흐르는 물에 깨끗이 씻은 후 증류수 2,000ml을 加하여 3시간동안 heating mantle(HN1-F, Hana, Korea)에서 煎湯한 다음 이를 8겹의 거즈로 濾過한 후 rotary evaporator(RE-52, Yamato, Japan)를 이용하여 180ml로 감압농축하고 실온에서 냉각하였다. 여기에 95% ethly alcohol 100ml를 가하여 교반

시킨 후 24시간 放置하여 생성한 침전물을 종이 filter로 거르고 그 濾液을 다시 85% ethly alcohol이 100ml를 가하여 교반시킨 후 24시간 방치하여 생성된 침전물을 종이 filter로 거르고 다시 여액에 75% ethylalcohol이 100ml를 가한 후 같은 조작을 2회 반복한 다음 여액중 ethly alcohol이 다 제거되도록 잔사전량을 100ml이 되게 한 뒤 전체분량이 600ml이 되도록 생리식염수를 가하여 냉장보관하였으며 약침액으로 사용시에는 citric acid와 Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>로 pH가 6~7이 되도록 조정하고 pore size가 0.22 $\mu$ m인 syringe filter(Whatman, England)를 이용하여 이를 여과하여 약침액으로 사용하였다.

6. 取穴

mouse에서 인체의 肺俞에 상응하는 부위의 體表 털을 제거한 후 骨度法에 의해 취혈하여 좌우를 교대로 처리하였다.

7. mouse 肺胞의 준비<sup>20-21)</sup>

실험 마지막날 (28일) mouse를 우레탄으로 마취시킨 다음, 胸部를 알콜로써 완전히 도포한 후 無菌의으로 肺와 氣管支를 摘出한뒤, 10ml의 생리식염수에 넣어 homogenizer(Heidolph, Germany)로 粉碎한 후 4°C 300×g에서 10분간 원심분리하였다.

이를 3회 반복한 후 상층액을 -20°C에서 보관하며 cytokine 생산량 측정시 녹여 이용하였다.

8. 測定項目

1) Interleukin-2 生産量

Mouse의 IL-2 생산량 측정은 Mouse IL-2 Quantikine M ELISA Kit(R&D system, U.S.A.)를 이용하였다. Mouse IL-2 Quantikine M ELISA Kit는 고행상 면역효소 측정법을 이용한 mouse Interleukin-2 측정용 kit로서 450nm 파장에서 吸光度를 측정하여 표준곡선으로부터 檢體內的 IL-2량을 算定할수 있는 방법이다.

96 well plate의 각 well에 50 $\mu$ l의 Assay Diluent solution을 분주하고 준비된 standard, control, 폐포 분쇄액을 50 $\mu$ l 첨가한 후 덮개를 씌우고 실온에서 2시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 각 well을 미리 준비된 Wash buffer

로 5회 세척한 뒤 물기를 깨끗이 제거하고 100 $\mu$ l의 Conjugate solution을 각 well에 분주하였다. 그 후 덮개를 씌우고 실온에서 2시간 배양하였다. 배양이 끝난 다음 Wash buffer로 5회 세척한 후 물기를 제거한 뒤 100 $\mu$ l의 Substrate Solution을 각 well에 분주한 후 빛이 차단된 장소인 실온에서 30분간 배양하였다. 그 후 100 $\mu$ l의 Stop Solution을 각 well에 분주한 뒤, ELISA 판독기(Emax, Molecular device, U.S.A.)로 450nm 파장에서 흡광도를 읽었다. 이 때 흡광도의 교정을 위하여 540nm에서 한번 더 읽었다.

2) Interleukin-4 生産量

Mouse의 IL-4 생산량 측정은 Mouse IL-4 Quantikine M ELISA Kit(R&D system, U.S.A.)를 이용하였다. Mouse IL-4 Quantikine M ELISA Kit는 고행상 면역효소 측정법을 이용한 mouse Interleukin-4 측정용 kit로서 450nm 파장에서 흡광도를 측정하여 표준곡선으로부터 검체내의 IL-4량을 산정할수 있는 방법이다.

96 well plate의 각 well에 50 $\mu$ l의 Assay Diluent solution을 분주하고 준비된 standard, control, 폐포 분쇄액을 50 $\mu$ l 첨가한 후 덮개를 씌우고 실온에서 2시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 각 well을 미리 준비된 Wash buffer로 5회 세척한 뒤 물기를 깨끗이 제거하고 100 $\mu$ l의 Conjugate solution을 각 well에 분주하였다. 그 후 덮개를 씌우고 실온에서 2시간 배양하였다. 배양이 끝난 다음 Wash buffer로 5회 세척한 후 물기를 제거한 뒤 100 $\mu$ l의 Substrate Solution을 각 well에 분주한 후 실온에서 30분간 배양하였다. 그 후 100 $\mu$ l의 Stop Solution을 각 well에 분주한 뒤, ELISA 판독기(Emax, Molecular device, U.S.A.)로 450nm 파장에서 흡광도를 읽었다. 이 때 흡광도의 교정을 위하여 540nm에서 한번 더 읽었다.

3) Interleukin-5 生産量

Mouse의 IL-5 생산량 측정은 Mouse IL-5 Quantikine M ELISA Kit(R&D system, U.S.A.)를 이용하였다. Mouse IL-5 Quantikine M ELISA Kit는 고행상 면역효소 측정법을 이용한 mouse Interleukin-5 측정용 kit로서 450nm 파장에서 흡광도를 측정하여 표준곡선으로부터 검체내의 IL-5량을 산정할수 있는 방법이다.

96 well plate의 각 well에 50 $\mu$ l의 Assay Diluent solution

을 분주하고 준비된 standard, control, 폐포 분쇄액을 50  $\mu$ l 첨가한 후 덮개를 씌우고 실온에서 2시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 각 well을 미리 준비된 Wash buffer로 5회 세척한 뒤 물기를 깨끗이 제거하고 100  $\mu$ l의 Conjugate solution을 각 well에 분주하였다. 그 후 덮개를 씌우고 실온에서 2시간 배양하였다. 배양이 끝난 다음 Wash buffer로 5회 세척한 후 물기를 제거한 뒤 100  $\mu$ l의 Substrate Solution을 각 well에 분주한 후 빛이 차단된 장소인 실온에서 30분간 배양하였다. 그 후 100  $\mu$ l의 Stop Solution을 각 well에 분주한 뒤, ELISA 판독기 (Emax, Molecular device, U.S.A.)로 450nm 파장에서 흡광도를 읽었다. 이 때 흡광도의 교정을 위하여 540nm에서 한번 더 읽었다.

#### 4) Interleukin-10 生産量

Mouse의 IL-10 생산량 측정은 Mouse IL-10 Quantikine M ELISA Kit(R&D system, U.S.A.)를 이용하였다. Mouse IL-10 Quantikine M ELISA Kit는 고품상 면역효소 측정법을 이용한 mouse Interleukin-10 측정용 kit로서 450nm 파장에서 흡광도를 측정하여 표준곡선으로부터 검체내의 IL-10 양을 산정할수 있는 방법이다. 96 well plate의 각 well에 50  $\mu$ l의 Assay Diluent solution을 분주하고 준비된 standard, control, 폐포 분쇄액을 50  $\mu$ l 첨가한 후 덮개를 씌우고 실온에서 2시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 각 well을 미리 준비된 Wash buffer로 5회 세척한 뒤 물기를 깨끗이 제거하고 100  $\mu$ l의 Conjugate solution을 각 well에 분주하였다. 그 후 덮개를 씌우고 실온에서 2시간 배양하였다. 배양이 끝난 다음 Wash buffer로 5회 세척한 후 물기를 제거한 뒤 100  $\mu$ l의 Substrate Solution을 각 well에 분주한 후 실온에서 30분간 배양하였다. 그 후 100  $\mu$ l의 Stop Solution을 각 well에 분주한 뒤, ELISA 판독기(Emax, Molecular device, U.S.A.)로 450nm 파장에서 흡광도를 읽었다. 이 때 흡광도의 교정을 위하여 540nm에서 한번 더 읽었다.

#### 5) Interleukin-12 生産量

Mouse의 IL-12 생산량 측정은 Mouse IL-12 p40 Quantikine M ELISA Kit(R&D system, U.S.A.)를 이용하였다. Mouse IL-12 p40 Quantikine M ELISA Kit는 고품상 면역효소 측정법을 이용한 mouse Interleukin-12 측정용

kit로서 450nm 파장에서 흡광도를 측정하여 표준곡선으로부터 검체내의 IL-12 양을 산정할수 있는 방법이다.

96 well plate의 각 well에 50  $\mu$ l의 Assay Diluent solution을 분주하고 준비된 standard, control, 폐포 분쇄액을 50  $\mu$ l 첨가한 후 덮개를 씌우고 실온에서 2시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 각 well을 미리 준비된 Wash buffer로 5회 세척한 뒤 물기를 깨끗이 제거하고 100  $\mu$ l의 Conjugate solution을 각 well에 분주하였다. 그 후 덮개를 씌우고 실온에서 2시간 배양하였다. 배양이 끝난 다음 Wash buffer로 5회 세척한 후 물기를 제거한 뒤 100  $\mu$ l의 Substrate Solution을 각 well에 분주한 후 빛이 차단된 장소인 실온에서 30분간 배양하였다. 그 후 100  $\mu$ l의 Stop Solution을 각 well에 분주한 뒤, ELISA 판독기 (Emax, Molecular device, U.S.A.)로 450nm 파장에서 흡광도를 읽었다. 이 때 흡광도의 교정을 위하여 540nm에서 한번 더 읽었다.

#### 6) Interferon- 生産量

Mouse의 IFN- $\gamma$  생산량 측정은 Mouse IFN-gamma Quantikine M Immunoassay Kit(R&D system, U.S.A.)를 이용하였다. Mouse IFN-gamma Quantikine M Immunoassay Kit는 고품상 면역효소 측정법을 이용한 mouse Interferon- $\gamma$  측정용 kit로서 450nm 파장에서 흡광도를 측정하여 표준곡선으로부터 검체내의 IFN- $\gamma$  양을 산정할수 있는 방법이다.

96 well plate의 각 well에 50  $\mu$ l의 Assay Diluent solution을 분주하고 준비된 standard, control, 폐포 분쇄액을 50  $\mu$ l 첨가한 후 덮개를 씌우고 실온에서 2시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 각 well을 미리 준비된 Wash buffer로 5회 세척한 뒤 물기를 깨끗이 제거하고 100  $\mu$ l의 Conjugate solution을 각 well에 분주하였다. 그 후 덮개를 씌우고 실온에서 2시간 배양하였다. 배양이 끝난 다음 Wash buffer로 5회 세척한 후 물기를 제거한 뒤 100  $\mu$ l의 Substrate Solution을 각 well에 분주한 후 빛이 차단된 장소인 실온에서 30분간 배양하였다. 그 후 100  $\mu$ l의 Stop Solution을 각 well에 분주한 뒤, ELISA 판독기 (Emax, Molecular device, U.S.A.)로 450nm 파장에서 흡광도를 읽었다. 이 때 흡광도의 교정을 위하여 540nm에서 한번 더 읽었다.

9. 統計 處理

실험 결과의 통계 처리는 SPSS for Windows(release 5.0.2, Copyright Spss Inc.)를 사용하였다. 有意性 검증은 독립표본 T검정에 의하여 그 결과가 P<0.05 수준인 경우 유의성이 있다고 판정하였으며 일원분산분석(one-way ANOVA)을 이용하여  $\alpha = 0.05$  수준에서 사후다중비교로 Duncan의 다중범위검정법에 의해 각 group을 비교하였다.

III. 實驗成績

1. Interleukin-2 生産量에 미치는 影響

정상군(Normal)은  $24.17 \pm 5.328$ pg/ml 이었고, 대조군(Control)은  $46.75 \pm 7.997$ pg/ml, 생리식염수 투여군(Treat I)은  $38.40 \pm 5.889$ pg/ml, 자침군(Treat II)은  $26.93 \pm 5.856$ pg/ml, 약물 경구투여군(Treat III)은  $53.51 \pm 7.846$ pg/ml, 약침처리군(Treat IV)은  $19.12 \pm 1.465$ pg/ml으로 나타

Table I . The Productivity of Interleukin-2 in the Mouse Model of allergic Asthma by various Treat Methods.

Group	No. of animals	Interleukin-2(pg/ml)	Duncan's grouping
Normal	8	$24.17 \pm 5.328^a$	AB <sup>b)</sup>
Control	8	$46.75 \pm 7.997$	C
Treat I	8	$38.40 \pm 5.889^*$	D
Treat II	8	$26.93 \pm 5.856^*$	B
Treat III	8	$53.51 \pm 7.846$	E
Treat IV	8	$19.12 \pm 1.465^*$	A

a) : Mean  $\pm$  Standard Error

b) : Means with different letters(A,B,C,D,E) within a column are significantly different from each other =0.05 as determines by Duncan's multiple-range test.

\* : Statistical significance compared with control (p<0.05)

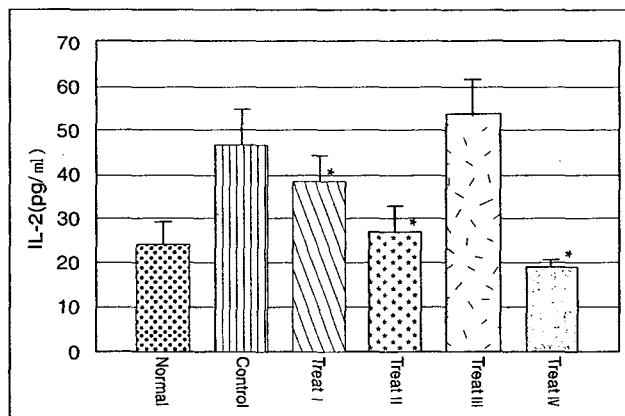


Figure 1. IL-2 production in bronchoalveolar lavage fluid by various treat methods.

Normal : Non-treated group.

Control : Group with not treated after allergic sensitization and induction by ovalbumin.

Treat I : Group with the oral administration of saline after allergic sensitization and induction by ovalbumin.

Treat II : Allergic asthma group treated with acupuncture (BL 13).

Treat III : Allergic asthma group treated with oral the administration of Raphani Semen.

Treat IV : Allergic asthma group treated with the herbal-acupuncture of Raphani Semen (BL 13).

\* : Statistical significance compared with control (p<0.05)

나 생리식염수 투여군, 자침군과 약침처리군에서는 대조군에 비하여 有意性 있게 감소하였으나 약물 경구투여군에서는 有意성을 보이지 않았지만 증가하는 모습을 보여 주었다. 이중 약침처리군에서는 다른 군에 비하여 Interleukin-2의 생산량이 현저하게 감소됨을 볼 수 있었다.

Duncan 다중범위검정법에 의한 개별 비교에 있어서는 정상군을 제외한 다른 모든 군에서 有意성 있는 차

이를 보여 주었다. (Table I, Fig. 1)

## 2. Interleukin-4 生産量에 미치는 影響

정상군(Normal)은  $11.48 \pm 0.659$ pg/ml 이었고, 대조군(Control)은  $17.08 \pm 1.866$ pg/ml, 생리식염수 투여군(Treat I)은  $14.42 \pm 1.378$ pg/ml, 자침군(Treat II)은  $13.88 \pm 1.491$ pg/ml, 약물 경구투여군(Treat III)은  $15.76 \pm 3.008$ pg/ml

Table II. The Productivity of Interleukin-4 in the Mouse Model of allergic Asthma by various Treat Methods.

Group	No. of animals	Interleukin-4(pg/ml)	Duncan's grouping
Normal	8	$11.48 \pm 0.659^a$	A <sup>b</sup>
Control	8	$17.08 \pm 1.866$	B
Treat I	8	$14.42 \pm 1.378^*$	CE
Treat II	8	$13.88 \pm 1.491^*$	CD
Treat III	8	$15.76 \pm 3.008$	BE
Treat IV	8	$12.20 \pm 0.286^*$	AD

a) : Mean  $\pm$  Standard Error

b) : Means with different letters(A,B,C,D,E) within a column are significantly different from each other  $\alpha=0.05$  as determines by Duncan's multiple-range test.

\* : Statistical significance compared with control ( $p < 0.05$ )

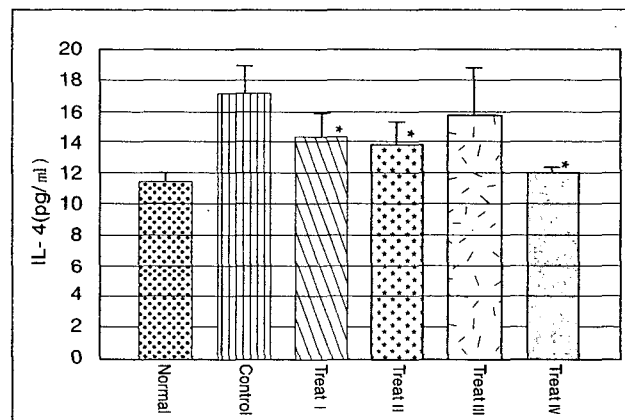


Figure 2. IL-4 production in bronchoalveolar lavage fluid by various treat methods.

Normal : Non-treated group.

Control : Group with not treated after allergic sensitization and induction by ovalbumin.

Treat I : Group with the oral administration of saline after allergic sensitization and induction by ovalbumin.

Treat II : Allergic asthma group treated with acupuncture (BL 13).

Treat III : Allergic asthma group treated with the oral administration of Raphani Semen.

Treat IV : Allergic asthma group treated with the herbal-acupuncture of Raphani Semen (BL 13).

\* : Statistical significance compared with control ( $p < 0.05$ )

ml, 약침처리군(Treat IV)은  $12.20 \pm 0.286 \text{pg/ml}$ 으로 나타나 생리식염수 투여군, 자침군과 약침처리군에서는 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였고 약물 경구투여군에서도 유의성을 보이진 않지만 감소되는 모습을 보여 주었다. 이중 약침처리군에서는 다른 군에 비하여 Interleukin-4의 생산량이 현저하게 감소됨을 볼 수 있었다.

Duncan 다중범위검정법에 의한 개별 비교에 있어서

는 대조군은 생리식염수 투여군, 자침군, 약침처리군과 유의성 있는 차이를 보여 주었으며 약침처리군은 약물 경구투여군, 생리식염수 투여군, 대조군과 유의성 있는 차이를 보여 주었다. (Table II, Fig. 2)

### 3. Interleukin-5 生産量에 미치는 影響

정상군(Normal)은  $9.72 \pm 4.512 \text{pg/ml}$ 이었고, 대조군

Table III. The Productivity of Interleukin-5 in the Mouse Model of allergic Asthma by various Treat Methods.

Group	No. of animals	Interleukin-5(pg/ml)	Duncan's grouping
Normal	8	$9.72 \pm 4.512^a)$	A <sup>b)</sup>
Control	8	$29.07 \pm 11.069$	B
Treat I	8	$10.65 \pm 5.889^*$	A
Treat II	8	$25.38 \pm 14.370$	BC
Treat III	8	$31.07 \pm 6.090$	B
Treat IV	8	$18.72 \pm 6.189^*$	AC

a) : Mean  $\pm$  Standard Error

b) : Means with different letters(A,B,C) within a column are significantly different from each other  $\alpha = 0.05$  as determines by Duncan's multiple-range test.

\* : Statistical significance compared with control ( $p < 0.05$ )

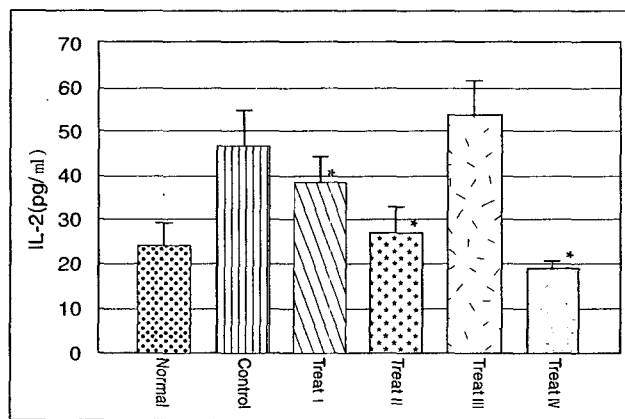


Figure 3. IL-5 production in bronchoalveolar lavage fluid by various treat methods.

Normal : Non-treated group.

Control : Group with not treated after allergic sensitization and induction by ovalbumin.

Treat I : Group with the oral administration of saline after allergic sensitization and induction by ovalbumin.

Treat II : Allergic asthma group treated with acupuncture (BL 13).

Treat III : Allergic asthma group treated with the oral administration of Raphani Semen.

Treat IV : Allergic asthma group treated with the herbal-acupuncture of Raphani Semen (BL 13).

\* : Statistical significance compared with control ( $p < 0.05$ )



(Control)은  $29.07 \pm 11.069$ pg/ml, 생리식염수 투여군(Treat I)은  $10.65 \pm 5.889$ pg/ml, 자침군(Treat II)은  $25.38 \pm 14.370$ pg/ml, 약물 경구투여군(Treat III)은  $31.07 \pm 6.090$ pg/ml, 약침처리군(Treat IV)은  $18.72 \pm 6.189$ pg/ml로 나타나 생리식염수 투여군과 약침처리군에서는 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였고, 자침군에서는 유의성은 볼 수 없지만 감소되는 모습을 보여 주었다. 약물 경구투여군에서는 대조군에 비해 유의성은 없지

만 약간 증가하는 모습을 보여 주었다.

Duncan 다중범위검정법에 의한 개별 비교에 있어서는 대조군은 생리식염수 투여군, 약침처리군과 유의성 있는 차이를 보여 주었으며 약물 경구투여군은 약침처리군, 생리식염수 투여군과 유의성 있는 차이를 보여 주었다. (Table III, Fig. 3)

Table IV. The Productivity of Interleukin-10 in the Mouse Model of allergic Asthma by various Treat Methods.

Group	No. of animals	Interleukin-10(pg/ml)	Duncan's grouping
Normal	8	$26.05 \pm 2.967^a$	A <sup>b</sup>
Control	8	$31.91 \pm 3.462$	BC
Treat I	8	$28.55 \pm 2.158^*$	AB
Treat II	8	$35.73 \pm 7.123$	C
Treat III	8	$25.80 \pm 1.013^*$	A
Treat IV	8	$34.19 \pm 2.930$	C

a) : Mean  $\pm$  Standard Error

b) : Means with different letters(A,B,C) within a column are significantly different from each other  $\alpha=0.05$  as determines by Duncan's multiple-range test.

\* : Statistical significance compared with control ( $p<0.05$ )

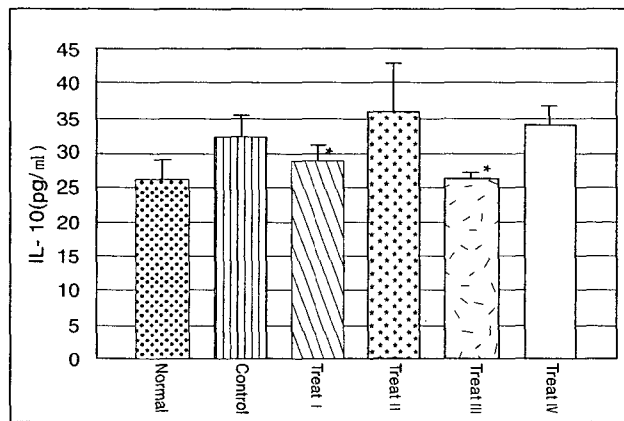


Figure 4. IL-10 production in bronchoalveolar lavage fluid by various treat methods.

Normal : Non-treated group.

Control : Group with not treated after allergic sensitization and induction by ovalbumin.

Treat I : Group with the oral administration of saline after allergic sensitization and induction by ovalbumin.

Treat II : Allergic asthma group treated with acupuncture (BL 13).

Treat III : Allergic asthma group treated with the oral administration of Raphani Semen.

Treat IV : Allergic asthma group treated with the herbal-acupuncture of Raphani Semen (BL 13).

\* : Statistical significance compared with control ( $p<0.05$ )

#### 4. Interleukin-10 生産量에 미치는 影響

정상군(Normal)은  $26.05 \pm 2.967$ pg/ml 이었고, 대조군(Control)은  $31.91 \pm 3.462$ pg/ml, 생리식염수 투여군(Treat I)은  $28.55 \pm 2.158$ pg/ml, 자침군(Treat II)은  $35.73 \pm 7.123$ pg/ml, 약물 경구투여군(Treat III)은  $25.80 \pm 1.013$ pg/ml, 약침처리군(Treat IV)은  $34.19 \pm 2.930$ pg/ml 으 로 나타나 생리식염수 투여군과 약물 경구투여군에서

는 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였으나 자침군 과 약침처리군에서는 증가하는 모습을 보였고 유의성 은 없었다.

Duncan 다중범위검정법에 의한 개별 비교에 있어서는 대조군은 약물 경구투여군과 유의성 있는 차이를 보여 주었고 자침군과 약침처리군은 생리식염수 투여 군과 약물 경구투여군과 유의성 있는 차이를 보여 주 었다. (Table IV, Fig. 4)

Table V. The Productivity of Interleukin-12 in the Mouse Model of allergic Asthma by various Treat Methods.

Group	No. of animals	Interleukin-12(pg/ml)	Duncan's grouping
Normal	8	$7.45 \pm 0.452^a$	A <sup>b)</sup>
Control	8	$13.54 \pm 0.330$	B
Treat I	8	$11.55 \pm 1.252^*$	C
Treat II	8	$11.04 \pm 0.735^*$	C
Treat III	8	$11.03 \pm 0.313^*$	C
Treat IV	8	$9.26 \pm 0.932^*$	D

a) : Mean  $\pm$  Standard Error

b) : Means with different letters(A,B,C,D) within a column are significantly different from each other  $\alpha=0.05$  as determines by Duncan's multiple-range test.

\* : Statistical significance compared with control ( $p < 0.05$ )

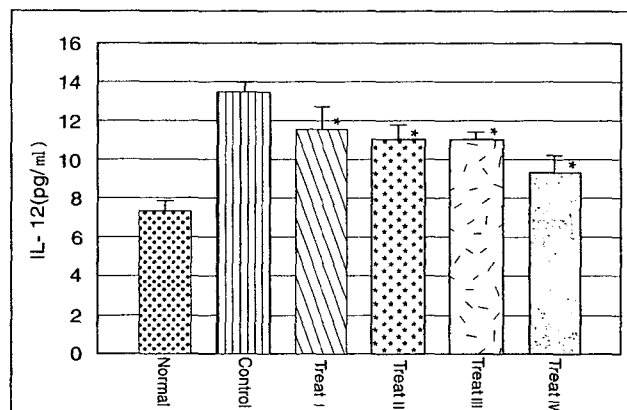


Figure 5. IL-12 production in bronchoalveolar lavage fluid by various treat methods.

Normal : Non-treated group.

Control : Group with not treated after allergic sensitization and induction by ovalbumin.

Treat I : Group with the oral administration of saline after allergic sensitization and induction by ovalbumin.

Treat II : Allergic asthma group treated with acupuncture (BL 13).

Treat III : Allergic asthma group treated with the oral administration of Raphani Semen.

Treat IV : Allergic asthma group treated with the herbal-acupuncture of Raphani Semen (BL 13).

\* : Statistical significance compared with control ( $p < 0.05$ )

5. Interleukin-12 生産量에 미치는 影響

정상군(Normal)은  $7.45 \pm 0.452$ pg/ml 이었고, 대조군(Control)은  $13.54 \pm 0.330$ pg/ml, 생리식염수 투여군(Treat I)은  $11.55 \pm 1.252$ pg/ml, 자침군(Treat II)은  $11.04 \pm 0.735$ pg/ml, 약물 경구투여군(Treat III)은  $11.03 \pm 0.313$ pg/ml, 약침처리군(Treat IV)은  $9.26 \pm 0.932$ pg/ml으로 나타나 대조군에 비해 생리식염수 투여군, 자침군, 약물 경구투여군, 약침처리군에서 모두 유의성 있는 감소를 보여 주었으며 그 중 약침처리군에서 대조군에 비해 현저히 감소하는 양상을 보여주었다.

Duncan 다중범위검정법에 의한 개별 비교에 있어서는 생리식염수 투여군, 자침군, 약물 경구투여군에서는 유의성 있는 차이를 볼 수 없었으나 그 외의 다른 군과는 유의성 있는 차이를 보여 주고 있다. 또한 대조군과 약침처리군도 각각 다른 군들에 비해 유의성 있는 차이를 보여 주었다. (Table V, Fig. 5)

6. Interferon- $\gamma$  生産量에 미치는 影響

정상군(Normal)은  $15.52 \pm 1.456$ pg/ml 이었고, 대조군(Control)은  $17.79 \pm 1.450$ pg/ml, 생리식염수 투여군(Treat I)은  $18.32 \pm 2.838$ pg/ml, 자침군(Treat II)은  $19.34 \pm 1.568$ pg/ml, 약물 경구투여군(Treat III)은  $17.06 \pm 3.634$ pg/ml

ml, 약침처리군(Treat IV)은  $18.36 \pm 1.987$ pg/ml으로 나타나 대조군에 비해 약물 경구투여군에서 약간 감소하고 그 외의 생리식염수 투여군, 자침군, 약침처리군에서 모두 증가하는 모습을 보였으나 모두 유의성이 나타나지 않았다.

Duncan 다중범위검정법에 의한 개별 비교에 있어서는 정상군과 생리식염수 투여군, 자침군, 약침처리군에서 유의성을 보여 주었고 그 외의 군에서는 유의성이 나타나지 않았다. (Table VI, Fig. 6)

Table VI. The Productivity of Interferon- in the Mouse Model of allergic Asthma by various Treat Methods.

Group	No. of animals	Interferon- $\gamma$ (pg/ml)	Duncan's grouping
Normal	8	$15.52 \pm 1.456^a$	A <sup>b)</sup>
Control	8	$17.79 \pm 1.450$	AB
Treat I	8	$18.32 \pm 2.838$	B
Treat II	8	$19.34 \pm 1.568$	B
Treat III	8	$17.06 \pm 3.634$	AB
Treat IV	8	$18.36 \pm 1.987$	B

a) : Mean  $\pm$  Standard Error

b) : Means with different letters(A,B) within a column are significantly different from each other  $\alpha = 0.05$  as determines by Duncan's multiple-range test.

\* : Statistical significance compared with control (p<0.05)

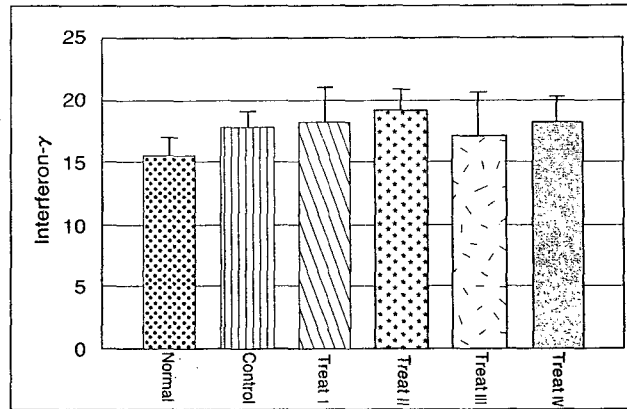


Figure 6. Interferon-γ production in bronchoalveolar lavage fluid by various treat methods.

Normal : Non-treated group.

Control : Group with not treated after allergic sensitization and induction by ovalbumin.

Treat I : Group with the oral administration of saline after allergic sensitization and induction by ovalbumin.

Treat II : Allergic asthma group treated with acupuncture (BL 13).

Treat III : Allergic asthma group treated with the oral administration of Raphani Semen.

Treat IV : Allergic asthma group treated with the herbal-acupuncture of Raphani Semen (BL 13).

\* : Statistical significance compared with control (p<0.05)

#### IV. 考察

喘息은 可逆的인 氣道閉塞과 氣管支 過敏性외에 慢性 好酸球性 氣道炎症疾患으로 정의된다<sup>20</sup>.

Allergy性 炎症反應에서 중요한 세포는 T-림프구와 호산구로, T-림프구는 Allergy성 염증반응의 양상을 결정하는 조정자의 역할을 담당하는데, 주로 T-림프구에서 생성되는 cytokine을 통해서 이루어지고, 활성화된 호산구에서는 여러 가지 화학매체를 분비하여 기관지의 손상을 유도한다. Allergy성 천식은 抗原이 기도내로 들어오면 항원 특이적 항체(IgE, IgG)가 생성되어 비만세포나 호염기구 등의 표면 수용체에 달라붙은 후 동일한 항원에 노출될 경우 활성화되고, histamin과 같은 세포내 화학전달물질이 세포 밖으로 遊離되는 현상이 일어나며, 이들 물질에 의해 數分 내에 기도수축을 일으켰다가 30-60분 후에 소실되는 早期喘息反應을 일으키게 된다. 비만세포에서 분비되는 화학매체물질들과 기타 대식세포, 비만세포 및 絨毛 T세포에서 여러 가지 cytokine들을 분비하고, 이 cytokine들이 기관지 점막과 점막하의 염증성 세포(주로 호산구)를 증식 및 활성화하여 3-4시간 후부터 기관지 수축반응을 나타내어 4-8

시간에 最高置에 달하며, 12-24시간 이후에 소실되는 後期反應을 일으킨다<sup>20</sup>.

기관지 천식 환자에서 기관지 폐포세척액 内の 활성화된 T세포의 수는 기관지 과민성의 증가와 관련이 있고, 또한 호산구수의 증가와도 밀접한 연관이 있다. T세포중 T suppressor(TS; CD8+)세포는 非아토피성 천식 환자에서 증가되며, Th세포는 아토피 및 非아토피성 천식에서 활성화된 상태로 기도에서 발견된다. Th세포는 Th0세포, Th1세포와 Th2세포로 구분한다. Th세포는 세포 매개성 면역반응에 관계하는 Th1세포나 IgE합성과 호산구의 활성화 및 침윤을 촉진시키는 Th2세포로 分化한다. 이때 IL-4에 의해 Th2세포로 分化되고, IL-12는 IL-2, INF- 등을 분비하는 Th1세포로 分기킨다. Th2세포는 IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 등을 분비하여 기관지 천식의 염증반응에 관여한다<sup>20</sup>.

萊菔子(RAPHANI SEMEN)는 十字花科(Cruciferae)에 속한 1년생 또는 2년생 草本인 芻 Raphanus sativus var. hortensis for. acanthiformis MAKINO 의 성숙한 種子를 건조한 것으로, 여름과 가을에 채취하여 晒乾한다<sup>21</sup>. 萊菔子에 대해 여러 문헌의 언급을 살펴보면 다음과 같다. 本草求真<sup>22</sup>에서는 氣味甚辛하고, 肺, 脾로 歸經하며,

炒熟則下氣定喘이라 하였고, 本草藥學<sup>26)</sup>에서는 平, 辛甘하며, 肺, 脾, 胃으로 歸經하고, 祛痰下氣, 消食化積하여 咳嗽痰多氣喘에 쓴다고 하였으며, 本草備要解析<sup>27)</sup>에서는 辛入肺, 甘走脾하고, 長於利氣, 生能升, 熟能降하여 降則定痰喘嗽라 하였고, 方藥合編<sup>28)</sup>에서는 味辛하며 治喘咳, 下氣消脹이라 하였다. 綜合的으로 萊菔子の 氣味를 살펴보면 平, 辛甘, 無毒하고, 주로 肺, 胃經에 歸經하며, 下氣定喘, 消食化痰하는 效能이 있어 咳嗽痰喘, 食積氣滯, 胸悶腹脹, 下痢後重 등을 治療하는 藥物이다. 申<sup>9)</sup>은 “痰喘을 定하고 咳嗽를 누르며, 下氣除脹하여 行氣消痰의 要藥이 된다.”고 하였다.

藥針療法은 經絡學說의 원리에 의거하여 一定한 藥物을 원료로 해서 다양한 추출과정을 거쳐 만들어진 製劑를 가지고, 주사기를 이용해 병증에 有關한 穴位, 壓痛點, 혹은 體表의 觸診으로 얻어진 陽性反應點에 주입하여 자침과 藥物작용을 통해 生體의 기능을 조정하고, 병리상태를 改變시켜 질병을 治療하는 新針療法이다<sup>9)</sup>.

肺俞(Pyusu, BL 13)는 足太陽膀胱經의 穴로 肺의 背俞穴이고, 第三胸椎棘突下 兩傍 各 1寸 5分에 위치하는데, 그 穴性이 調肺氣, 補虛損, 清虛熱, 和營血하여 肺疾患, 肺炎, 肺結核, 咳嗽, 喘息, 氣管支炎, 呼吸困難 등을 치료하는데 널리 활용된다<sup>9)</sup>. 최근 연구에 의하면 肺機能 및 肺氣量 調節 作用, 氣管支 平滑筋 鎮靜 作用, 氣管支 喘息 發作 停止作用이 있다고 보고 되었다<sup>9)</sup>. 천식의 鍼灸 治療에 대한 문헌고찰 결과 手太陰肺經과 任脈, 足陽明胃經, 足太陽膀胱經의 肺俞·天突·合谷·足三里·風門 등이 多用되었다<sup>9)</sup>. 洪 등<sup>30)</sup>의 논문에 의하면 黃帝內經, 東醫寶鑑 등 歷代 文獻 32개를 대상으로 考察한 결과 中(16回), 天突(15回)에 이어 세 번째로 多用(14回)된 穴이 肺俞穴이었다. 이에 著者는 歷代로 천식에 多用되었고, mouse에서 비교적 取穴이 용이한 肺俞를 선택하여 실험에 임하였다.

한의학에서 천식은 哮喘證에 해당되는 것으로, 喉中 有聲한 哮喘證과 呼吸急促한 喘證으로 구분하는데. 哮는 반드시 喘을 겸하므로 呼吸急促하고 喘鳴有聲한 것을 통칭하여 哮喘證이라 하였다<sup>31)</sup>.

이 哮喘의 원인에는 寒冷, 心因, 痰因, 素因, 感染, 過敏性反應 및 肺腎의 呼吸機能障礙 등을 들 수 있다.<sup>9)</sup>

“諸氣奔鬱 皆屬於肺...諸痿喘嘔 皆屬於上...諸逆衝上 皆屬於火”라고 한 《素問·至真要大論》<sup>32)</sup>은 喘과 肺, 氣上逆, 火와의 연관성을 언급한 것이었고, “肺病者 喘咳

逆氣...腎病者...喘咳身重”라고 한 《素問·藏氣法時論》<sup>33)</sup>은 천식을 肺, 腎과 관련지은 것이었다.

천식의 치료는 虛症과 實症으로 辨證하여 치료한다. 實症은 風寒, 痰濁 등의 病邪가 위주가 되므로 外感風寒은 祛風散寒, 宣肺定喘, 痰濕은 燥濕化痰, 降氣定喘, 寒痰은 溫肺散寒, 定喘化痰의 治法으로 치료하고, 虛症은 補虛가 위주가 되므로 肺虛는 涼肺定喘, 心身虛損은 補益心身, 納氣定喘, 上實下虛에는 瀉肺化痰, 補益身元시키는 治法으로 치료한다<sup>9)</sup>.

Allergy성 천식에 대한 실험적 연구를 살펴보면, 이<sup>34)</sup>가 Allergy性 喘息에 대한 減感作療法の 效果를, 유<sup>35)</sup>가 麥門冬湯이 알레르기 喘息의 呼吸樣相과 氣管組織에 미치는 影響을, 왕<sup>36)</sup>이 定喘湯이 알레르기성 喘息의 呼吸樣相과 氣管粘膜의 好酸球浸潤에 미치는 影響을, 서<sup>37)</sup>가 麥門冬湯加味方이 實驗的 알레르기 喘息에 미치는 影響을, 이<sup>38)</sup>가 小青龍湯이 알레르기 喘息 모델 흰쥐의 BALF내 免疫細胞에 미치는 影響을, 이<sup>39)</sup>가 定喘化痰降氣湯이 實驗的 喘息의 組織學的 變化에 미치는 影響을, 김<sup>40)</sup>이 麥門冬湯과 定喘化痰降氣湯이 알레르기 喘息 모델 흰쥐의 BALF내 免疫細胞 및 血清 IgE에 미치는 影響을 보고한 바 있다.

Allergy성 천식은 소아기에 흔한 만성질환인데 여러 가지 자극에 대한 氣道の 過敏性과 炎症反應 및 평활근의 광범위한 延축에 의해 咳嗽(cough), 呼吸困難(dyspnea), 喘鳴(wheezing)등의 특징 증상이 가역적으로 일어나는 閉鎖性 疾患이며, 대표적 I형 allergy 질환으로 여러 가지 病因說 중 면역학설이 가장 유력하고, 外因성 또는 Allergy성 천식이라 불리운다. Allergy성 천식은 鼻炎, 蕁麻疹, 皮膚炎 등의 개인적이거나 가족적인 Allergy성 질환과 종종 관계가 있는데, 공기 매개 allergy 항원의 추출물을 피하주사 하였을 때, 陽性的 膨疹, 發赤擴張의 皮膚反應, 血清內 증가된 IgE치, 특수 항원의 흡입을 포함한 유발시험에 양성반응을 보이는 것을 특징으로 한다<sup>40-41)</sup>.

Allergy성 천식은 T 림프구 또는 B 림프구에 의해 조절되는 IgE 반응에 관계되며, 항원과 肥胖細胞-IgE 분자의 상호 작용에 의해 활성화 된다<sup>42)</sup>.

IgE 합성은 일차적으로 B 세포(림프구)에서 이루어지는데, B 세포 항체생산능은 T 세포의 면역기능에 의하여 조절되므로, allergy 개체의 IgE 과잉생산은 B 세포 자체의 활성화 증가에 의하거나 T 세포의 면역 조절능 장애에 의해 起因된다고 하였다. 외부에서 침입한 미생물이나

내부에서 발생한 종양 등 항원적 요소가 매우 다양해짐으로 인하여 이에 대응하기 위한 면역계의 면역세포도 다양화되면서 진화하였다. 즉 림프구 중 B 세포는 항체를 생산하여 방어하지만, T 세포는 大食細胞를 활성화시키는 cytokine을 분비하여 生體를 방어하고 있다. 더 나아가 T 세포는 체액성 면역반응과 세포성 면역반응을 촉진시키는 협력 T 세포와 면역반응을 종결시키는 억제 T 세포 및 세포 독성을 나타내는 세포 독성 T 세포 등의 亞群으로 이루어졌음이 밝혀졌다. 림프구 및 비림프구를 총망라한 면역세포에서 생산되는 면역 중개 물질을 cytokine이라 하며 주로 T 세포에서 생산되는 可溶性 물질을 림포카인이라고 한다. 보조 T 세포(T helper cell)는 그들이 분비하는 cytokine의 종류에 따라 1형 보조 T 세포(Th1), 2형 보조 T 세포(Th2)로 나누어진다. Th1은 IL-2, IL-12, IFN- $\gamma$ 를 생산하고, 食食細胞를 활성화 시켜 세포성 면역반응과 체액성 면역반응을 항진시키며, Th2는 IL-4, IL-5, IL-10을 생산하여 항체중에서 IgE를 생산케 하든지 비만세포를 활성화하여 과민반응을 야기한다고 보고되었다<sup>40),43-44)</sup>.

Allergy 반응은 항원 자극 후 시간에 따라 早期反應과 後期反應으로 구분되며 임상적으로 중요한 것은 후기반응이 지속되는 상태가 되는 것이다. 후기반응을 일으키는 기전은 주로 염증세포의 침윤이 주요한 病因으로 작용한다<sup>45)</sup>. 조직검사상 염증세포중에서 호산구 및 림프구가 allergy 염증부위로 침윤되고, 활성화 指標의 상승이 발견되는 것을 볼 때 allergy성 만성염증에 림프구가 관련이 있음을 알려준다<sup>46)</sup>.

기관지 천식은 기도내에 호산구, 비만세포, T 림프구 등 활성화된 염증세포가 침착되어 있는 특징적인 소견을 보인다. 특히 호산구는 활성화 되어 과립단백이나 arachidonate 대사물을 분비하여 기도 평활근 수축, 기도 상피세포 탈락 및 점액분비 증가 등을 일으키는 세포로 기관지 천식의 病態生理에 중요하다. 호산구는 골수에서 만들어지고 기도내로 이동하여 활성화 되는데 이러한 과정에 T helper(Th) 세포에서 분비하는 cytokine이 중요한 역할을 한다. Th 세포는 cytokine 분비양상에 따라 Th1 세포와 Th2 세포로 나뉘어지는데, Th1 세포에서는 Interleukin-2(IL-2), Interferon- $\gamma$ (INF- $\gamma$ )를 분비하고, Th2 세포는 IL-4, IL-5, IL-10, IL-13을 분비한다. 기관지 천식에 있어 호산구가 이동하고 활성화하는데 Th2 cytokine이 중요한 역할을 한다. 예를 들면 IL-5는 골수에서 호산구 형성을 촉진시키고, 특이적으로 호산구에

대한 화학주성능이 있으며 호산구를 활성화 시킨다<sup>47)</sup>. IL-4, IL-13은 血管內皮細胞에 vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1) 發現을 증가시켜 선택적으로 호산구가 내피세포를 지나 조직내로 이동하도록 한다<sup>48)</sup>. 실제로 기관지 천식 환자의 기관지 폐포세척액이나 폐조직에 Th2 cytokine의 發現이 증가되어 있음은 잘 알려져 있다<sup>49)</sup>.

Th0 세포가 Th1 또는 Th2로 分化될 때 여러 가지 要因이 작용하지만 cytokine의 영향이 가장 중요한데, Th2 세포는 Th0 세포로부터 分化될 때 IL-4의 영향을 받아서 분화가 촉진되고, 반면에 IL-12는 Th2 세포로의 분화는 억제하고, Th1 세포로의 분화를 촉진시킨다<sup>50)</sup>.

실제로 Th2 cytokine이 중요한 역할을 하고 있는 기관지 천식에서 IL-12는 기도내 호산구 침착을 억제하는데, 이러한 현상은 cytokine 분비의 조절과 관계가 깊다<sup>51-52)</sup>.

본 실험에서는 BALB/C계 mouse를 대상으로 萊子를 藥物과 藥針處理하여 각각 經口投與와 肺俞에 刺針한 후 IL-2 생산량에 미치는 영향을 살펴 본 결과, 正常群은  $24.17 \pm 5.328 \text{ pg/ml}$ 이었으며, 對照群은  $46.75 \pm 7.997 \text{ pg/ml}$ , 生理食鹽水 投與群은  $38.40 \pm 5.889 \text{ pg/ml}$ , 刺針群은  $26.93 \pm 5.856 \text{ pg/ml}$ , 藥物 經口投與群은  $53.51 \pm 7.846 \text{ pg/ml}$ , 藥針處理群은  $19.12 \pm 1.465 \text{ pg/ml}$ 으로 나타나 생리식염수 투여군, 자침군과 약침처리군에서는 대조군에 비하여 有意性 있게 감소하였으나 약물 경구투여군에서는 有意성을 보이지 않았지만 증가하는 모습을 보여 주었다. 이중 약침처리군에서는 다른 군에 비하여 Interleukin-2의 생산량이 현저하게 감소됨을 볼 수 있었다. (Table I, Fig. 7)

IL-4 생산량에 미치는 영향은 정상군이  $11.48 \pm 0.659 \text{ pg/ml}$ 이었으며, 대조군은  $17.08 \pm 1.866 \text{ pg/ml}$ , 생리식염수 투여군은  $14.42 \pm 1.378 \text{ pg/ml}$ , 자침군은  $13.88 \pm 1.491 \text{ pg/ml}$ , 약물 경구투여군은  $15.76 \pm 3.008 \text{ pg/ml}$ , 약침처리군은  $12.20 \pm 0.286 \text{ pg/ml}$ 으로 나타나 생리식염수 투여군, 자침군과 약침처리군에서는 대조군에 비하여 有意성 있게 감소하였고 약물 경구투여군에서도 有意성을 보이지 않았지만 감소되는 모습을 보여 주었다. 이중 약침처리군에서는 다른 군에 비하여 Interleukin-4의 생산량이 현저하게 감소됨을 볼 수 있었다. (Table II, Fig. 8)

IL-5 생산량에 미치는 영향은 정상군이  $9.72 \pm 4.512 \text{ pg/ml}$ 이었으며, 대조군은  $29.07 \pm 11.069 \text{ pg/ml}$ , 생리식염수 투여군은  $10.65 \pm 5.889 \text{ pg/ml}$ , 자침군은  $25.38 \pm 14.370 \text{ pg/ml}$ , 약물 경구투여군은  $31.07 \pm 6.090 \text{ pg/ml}$ , 약침

처리군은  $18.72 \pm 6.189 \text{ pg/ml}$ 으로 나타나 생리식염수 투여군과 약침처리군에서는 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였고, 자침군에서는 유의성은 볼 수 없지만 감소되는 모습을 보여 주었다. 약물 경구투여군에서는 대조군에 비해 유의성은 없지만 약간 증가하는 모습을 보여 주었다. (Table III, Fig. 9)

IL-10 생산량에 미치는 영향은 정상군이  $26.05 \pm 2.967 \text{ pg/ml}$ 이었으며, 대조군은  $31.91 \pm 3.462 \text{ pg/ml}$ , 생리식염수 투여군은  $28.55 \pm 2.158 \text{ pg/ml}$ , 자침군은  $35.73 \pm 7.123 \text{ pg/ml}$ , 약물 경구투여군은  $25.80 \pm 1.013 \text{ pg/ml}$ , 약침처리군은  $34.19 \pm 2.930 \text{ pg/ml}$ 으로 나타나 생리식염수 투여군과 약물 경구투여군에서는 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였으나 자침군과 약침처리군에서는 증가하는 모습을 보였고 유의성은 없었다. (Table IV, Fig. 10)

IL-12 생산량에 미치는 영향은 정상군이  $7.45 \pm 0.452 \text{ pg/ml}$ 이었으며, 대조군은  $13.54 \pm 0.330 \text{ pg/ml}$ , 생리식염수 투여군은  $11.55 \pm 1.252 \text{ pg/ml}$ , 자침군은  $11.04 \pm 0.735 \text{ pg/ml}$ , 약물 경구투여군은  $11.03 \pm 0.313 \text{ pg/ml}$ , 약침처리군은  $9.26 \pm 0.932 \text{ pg/ml}$ 으로 나타나 대조군에 비해 생리식염수 투여군, 자침군, 약물 경구투여군, 약침처리군에서 모두 유의성 있는 감소를 보여 주었으며 그 중 약침처리군에서 대조군에 비해 현저히 감소하는 양상을 보여주었다. (Table V, Fig. 11)

IFN- $\gamma$  생산량에 미치는 영향은 정상군이  $15.52 \pm 1.456 \text{ pg/ml}$ 이었으며, 대조군은  $17.79 \pm 1.450 \text{ pg/ml}$ , 생리식염수 투여군은  $18.32 \pm 2.838 \text{ pg/ml}$ , 자침군은  $19.34 \pm 1.568 \text{ pg/ml}$ , 약물 경구투여군은  $17.06 \pm 3.634 \text{ pg/ml}$ , 약침처리군은  $18.36 \pm 1.987 \text{ pg/ml}$ 으로 나타나 대조군에 비해 약물 경구투여군에서 약간 감소하고 그 외의 생리식염수 투여군, 자침군, 약침처리군에서 모두 증가하는 모습을 보였으나 모두 유의성이 나타나지 않았다. (Table VI, Fig. 12)

IL-4는 T 세포에서 由來하는데, B 세포와 T 세포에 작용하여 이들의 분열 및 분화를 촉진하며 특히 IgE 항체 생산을 증가시킨다고 알려져 있다. 특히 mouse뿐 아니라 사람에서도 IgE 항체 생산을 증가시키는 유일한 cytokine으로 알려져 있다<sup>48)</sup>.

IL-5는 T 세포에서 유래하는데, B 세포와 호산구에 작용하여 이들의 분화를 촉진하는 것으로 알려져 있다<sup>50)</sup>.

본 실험의 결과를 종합해 볼 때, IL-4와 IL-5의 생산량에 있어 약침처리군이 대조군에 비해 유의성 있게

감소된 것을 알 수 있다. ( $p < 0.05$ ) 이것은 Th2 세포의 비활성화로 그 發現이 증가되지 않아 과민반응이 억제되는 것으로, 결과적으로 보면 Allergy성 천식이 유발되는 것을 억제한다고 볼 수 있다.

또한, 萊菔子の 藥針處理가 經口投與에 비해 효능이 있고, 肺俞를 자극한 刺鍼보다 그 유의성이 인정되므로 水-alcohol 침전법을 통한 藥針製劑에서 유효 성분의 추출이 더 효과적이었다고 보여진다.

앞으로 Allergy성 천식 질환의 치료에 萊菔子 藥針이 活用될 수 있을 것으로 기대되며, 그 用量과 有效濃度에 관해서는 此後에 深度있는 研究가 필요할 것으로 思慮된다.

## V. 結論

下氣定喘 작용이 있는 萊菔子の 效能을 실험적으로 관찰하기 위해 BALB/C계 mouse를 대상으로 ovalbumin 感作 이후 ovalbumin을 吸入시킴으로써 Allergy性 喘息을 誘發한 뒤 萊菔子 藥物 經口投與와 萊菔子 藥鍼處理를 하였고, 또한 각각 Treat군에 saline 경구투여와 肺俞穴 刺鍼의 Treat군을 두어 실험을 진행한 후 T-림프구 cytokine인 IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IFN- $\gamma$ 의 생산량을 측정하여 그 영향을 多角度로 관찰해 본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다. ( $p < 0.05$ )

1. Interleukin-2의 생산량은 생리식염수 투여군, 자침군과 약침처리군에서 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다.
2. Interleukin-4의 생산량은 생리식염수 투여군, 자침군과 약침처리군에서 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였는데, 이중 약침처리군에서는 다른 군에 비하여 Interleukin-4의 생산량이 현저하게 감소하였다.
3. Interleukin-5의 생산량은 생리식염수 투여군과 약침처리군에서 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다.
4. Interleukin-10의 생산량은 생리식염수 투여군과 약물 경구투여군에서 대조군에 비하여 유의성 있게

감소하였다.

- 5. Interleukin-12의 생산량은 생리식염수 투여군, 자침군, 약물 경구투여군, 약침처리군에서 대조군에 비해 모두 유의성 있게 감소하였다.
- 6. Interferon- $\gamma$ 의 생산량은 대조군에 비해 생리식염수 투여군, 자침군, 약물 경구투여군, 약침처리군 모두에서 유의성이 없었다.

以上的 실험 결과를 종합해 볼 때, IL-4와 IL-5의 생산량은 대조군에 비해 약침처리군이 유의성 있게 감소된 것을 알 수 있다. ( $p < 0.05$ ) 이것은 Th2 세포의 비활성화로 그 發現이 증가되지 않아 과민반응이 억제되는 것으로, 이런 機轉으로 인해 Allergy성 천식이 유발되는 것을 억제할 것으로 보여진다.

앞으로 Allergy성 천식 질환의 치료에 萊菔子 藥針이 活用될 수 있을 것이라 기대되며, 그 用量과 有效濃度에 관해서는 此後에 이에 대한 深度있는 研究가 필요할 것으로 思慮된다.

### 參 考 文 獻

1. 李珩九, 鄭昇杞, 東醫肺系內科學, 서울, 아트동방, pp.187-188, 196-201, 1996.
2. 大韓病理學會, 病理學, 서울, 高文社, pp.604-606, 1990.
3. 全國韓醫科大學 本草學教室, 本草學, 서울, 永林社, pp.373-374, 1992.
4. 申佶求, 申氏本草學 各論, 서울, 壽文社, p.691, 1988.
5. 全國韓醫科大學 鍼灸·經穴學教室, 鍼灸學(下), 서울, 集文堂, p.1457, 1993.
6. 全國韓醫科大學 鍼灸·經穴學教室, 鍼灸學(上), 서울, 集文堂, pp.478-479, 1993.
7. 朴喜守, 腧穴研究鍼灸學, 서울, 醫聖堂, pp.122-123, 1996.
8. 權赫星, 鄭熙才, 鄭昇杞, 李珩九, 淸上補下湯이 Allergy 喘息의 呼吸樣相과 氣管粘膜의 好酸球變化에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 22(1), pp.203-214, 1999.
9. 車恩秀, 鄭熙才, 鄭昇杞, 李珩九, 小青龍湯이 Asthma

- model 內的 Cytokine에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 23(1), pp.71-86, 2000.
10. 李珩九, 張仁圭, 五拗湯이 咳嗽 喘息에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 5, pp.175-190, 1982.
11. 權純湖, 鄭熙才, 鄭昇杞, 李珩九, 五拗湯이 알레르기 喘息의 呼吸樣相과 氣管組織에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 20(2), pp.98-107, 1999.
12. 鄭旭, 鄭熙才, 鄭昇杞, 李珩九, 杏仁과 桔梗이 Astma model 內的 Cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 影響, 大韓韓方內科學會誌, 21(1), pp.31-38, 2000.
13. 崔炳甲, 數種의 止咳平喘 藥材가 氣管支 平滑筋에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院, 博士學位 論文, 1998.
14. 朴永桓, 氣管支 喘息 생쥐 模型에서 麥門冬 藥鍼이 抗알레르기 및 免疫反應에 미치는 影響, 尙志大學校 大學院, 博士學位論文, 2000.
15. 심문경, 박은정, 정규만, 淸肺散이 마우스의 免疫 및 過敏反應에 미치는 影響, 大韓小兒科學會誌, 10(1), pp.265-297, 1997.
16. 金승수, 정희재, 정승기, 이형구, 解表二陳湯이 알레르기 喘息의 呼吸樣相과 氣管組織에 미치는 影響, 大韓韓方內科學會誌, 19(2), pp.59-71, 1999.
17. Zhang YU, Wayne JE, Lamm RK, Albert RK, Chi EY, Henderson WR, Lewis DB, Influence of the Route of Allergen Administration and Genetic Background on the Murine Allergic Pulmonary Response. AM J Respir Crit Care Mes 155 : 661-9, 1997.
18. 이숙영, 송정섭, 氣管支喘息 생쥐 模型에서 Interleukin-12가 氣道炎症에 미치는 影響, 천식 및 알레르기학회지, 19(1), pp.79-90, 1999.
19. 성은미, 이병렬, 赤芍藥 藥針이 關節炎에 미치는 실험적 연구, 大韓針灸學會誌, 17(1), pp.223-224, 2000.
20. Zaalberg, O.B., A simple method for detecting single antibody forming cell, Nature, Vol.202., 1231, 1964.
21. Nowotony, A., Antigen-antibody interactions in basic exercise in immunochemistry, Springer-Verlay Berlin Heidelberg, N.Y., 217-271, 285-287, 1979.
22. 全國醫科大學教授, 오늘의 診斷 및 治療, 서울, 한우리, p.287, 1999.
23. 大韓病理學會, 病理學, 서울, 高文社, pp.521-523, 2000.



24. 최병휘, 喘息의 동물 모델, 천식 및 알레르기 學會誌, 19(1), pp.16-18, 1999.
25. 黃宮綉, 本草求真, 北京, 人民衛生出版社, p.100, 1987.
26. 上海中醫學院, 中草藥學, 香港, 商務印書館香港分館, pp.451-452, 1983.
27. 楊東喜 編, 本草備要解析, 北京, 國興出版社, p.495, 1991.
28. 黃度淵, 方藥合編, 서울, 南山堂, p.254, 1992.
29. 楊繼洲, 鍼灸大成, 서울, 大星文化社, pp.79-88, 107-9, 114, 403-4, 431, 448, 1984.
30. 洪權義·蔡禹錫, 喘息의 鍼灸治療에 대한 文獻의 考察, 大田大學校 論文集 韓醫學編, 4(2), pp.137-139, 1996.
31. 許 浚, 東醫寶鑑, 서울, 大星文化社, pp.283-284, 1992.
32. 王 琦, 黃帝內經素問今釋, 서울, pp.122, 126, 439-440, 1983.
33. 이종걸, Allergy性 喘息에 대한 減感治療法의 效果, 대전, 忠南大學校 大學院, 碩士學位論文, 1993.
34. 유옥상, 麥門冬湯이 알레르기 喘息의 呼吸樣相과 氣管組織에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校 大學院, 碩士學位論文, 1999.
35. 왕중권, 定喘湯이 알레르기성 喘息의 呼吸 樣相과 氣管粘膜炎의 好酸球浸潤에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校 大學院, 碩士學位論文, 1999.
36. 서창훈, 麥門冬湯加味方이 實驗的 알레르기 喘息에 미치는 影響, 부산, 東義大學校 大學院, 碩士學位論文, 2001.
37. 이준우, 小青龍湯이 알레르기 喘息 모델 흰쥐의 BALF내 免疫細胞에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校 大學院, 碩士學位論文, 2001.
38. 이상준, 定喘化痰降氣湯이 實驗的 喘息의 組織學的 變化에 미치는 影響, 대구, 慶山大學校 大學院, 碩士學位論文, 2001.
39. 김진주, 麥門冬湯과 定喘化痰降氣湯이 알레르기 喘息 모델 흰쥐의 BALF내 免疫細胞 및 血清 IgE에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校 大學院, 2001.
40. 서울大學校 醫科大學 編, 免疫學, 서울, 서울大學校 出版部, pp.2-3, 72-5, 136-7, 1994.
41. 김세중, 免疫學, 서울, 고려의학, pp.259-265, 1994.
42. 全南大學校 醫科大學 면역 및 알레르기학 편찬위원회 編, 면역 및 알레르기학, 광주, pp.158-177, 1999.
43. 하대유, 그림으로 본 免疫學, 서울, 高文社, pp.282-3, 294-6, 1994.
44. 菊地浩吉, 最新免疫學, 서울, 集文堂, pp.1-35, 1993.
45. Larsen GL, Late- phase reactions Observation on pathogenesis and prevention, J Allergy Clin Immunol, 11, 665, 1985.
46. Poston RN, Chanez, Immunohistochemical characterization of the cellular infiltration in asthmatic bronchi, AM Rev Resir Dis, 145, 918, 1992.
47. Lopez AF, Sanderson CJ, Gamble JR, Campbell HR, Young IG, Vadas MA, Recombinant human Interleukin-5 is a selective activator of human eosinophil function, J Exp Med 167, 219-24, 1988.
48. Ryan JJ, Interleukin-4 and its receptor, Essential mediators of the allergic response, J Allergy Clin Immunol 99, 1-5, 1997.
49. Robinson DS, Hamid Q, Ying S, Tscopoulos A, Barkans J, Bentley AM, Corrigan C, Durham SR, Kay AB, Predominant Th2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma, N Engl J Med 326, 298-304, 1992.
50. Borish L, Rosenwasser LJ, Update on cytokine, J Allergy Clin Immunol 97, 719-33, 1996.
51. Gavett SH, O' Hearn DJ, Li X, Huang SK, Finkelman FD, Wills-Karp M, Interleukin-12 inhibits antigen-induced airway hyperresponsiveness, inflammation, and Th2 cytokine expression in mice, J Exp Med 182, 1527-36, 1995.
52. Sur S, Lam J, Bouchard P, Sigounas A, Holbert D, Metzger WJ, Immunomodulatory effects of IL-12 on allergic lung inflammation depend on timing of doses, J Immunol 157, 4173-80, 1996.